

# リアルタイム自動コロニーカウンターを活用したラピッドメディアによる判定検査のさらなる迅速化検討

○伊達 弘輝、竹歳 哲治、伊藤 裕、堀 芳樹、越智 航太、岩田 美咲（森永乳業(株)・品質管理部）

## 目的

食品の微生物検査において、短時間で培養検査の結果を出すことは、出荷判断などにおいて大きなメリットが得られる。特に大腸菌群検査の様な定性検査の場合、陽性となった場合には、製商品の出荷判断にも関わる。異常な結果は早期対応するために、より早く情報を得ることが重要である。大腸菌群の検査に用いられるデソキシコレイト寒天培地(DO)では、判定するまでに最短で培養開始後18時間が必要である。それに対して、ラピッドメディア-DO (RM-DO)を使用すると培養開始後12時間での、迅速な大腸菌群の検査が可能であることは報告済みである<sup>[1]</sup>。本報ではそれに加えて、24時間自動（30分または、60分ごとの定時モニタリング）でシャーレ上のコロニー検出を感知することが出来るインキュベーター内蔵式リアルタイム自動コロニーカウンター ScanStation（仏interscience社製）を併せて利用することで、ラピッドメディア-DOでの *Escherichia coli* の培養において、コロニー検出の感知を更に迅速化することができないか検討したので、報告する。



## ラピッドメディア-DOの使用

### ●ラピッドメディア-DO(RM-DO)<sup>[1]</sup>

- 高い吸収性能  
30分以内で1 mlの試験液の吸収が可能
- 高いコロニー視認性能  
培地表面に菌が生育  
混釈培養と比較し溶解培地の温度の影響がない
- 迅速な大腸菌群検査が可能  
培養開始後**12時間**で混釈培養と同等以上の生育性能  
(デソキシコレイト培地(DO)による混釈培養では培養開始後最短18時間必要)

### ●X-GAL試液を用いた検査法

#### 大腸菌群確認試験の簡便化

X-GAL試液をRM-DOの培地表面のコロニーに直接滴下し反応させることにより、短時間で簡便に大腸菌群の確認が可能である

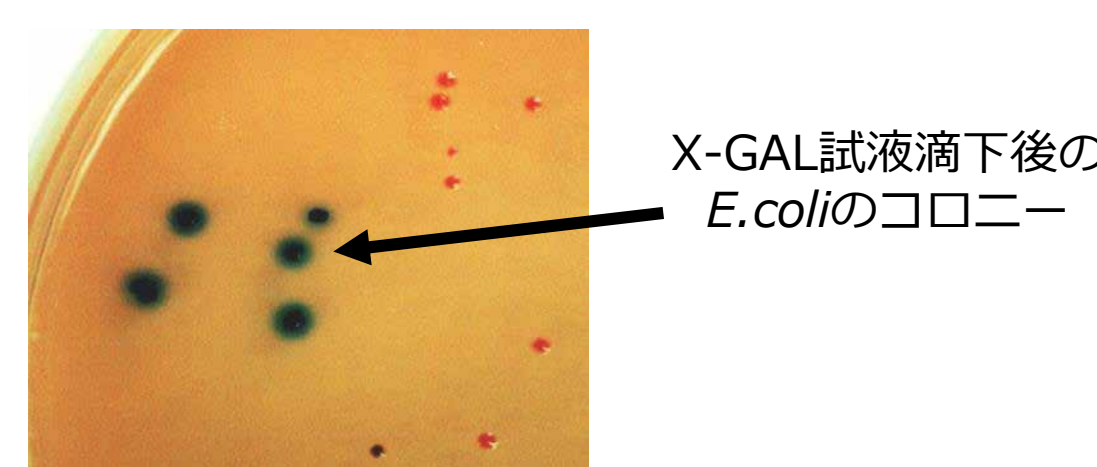
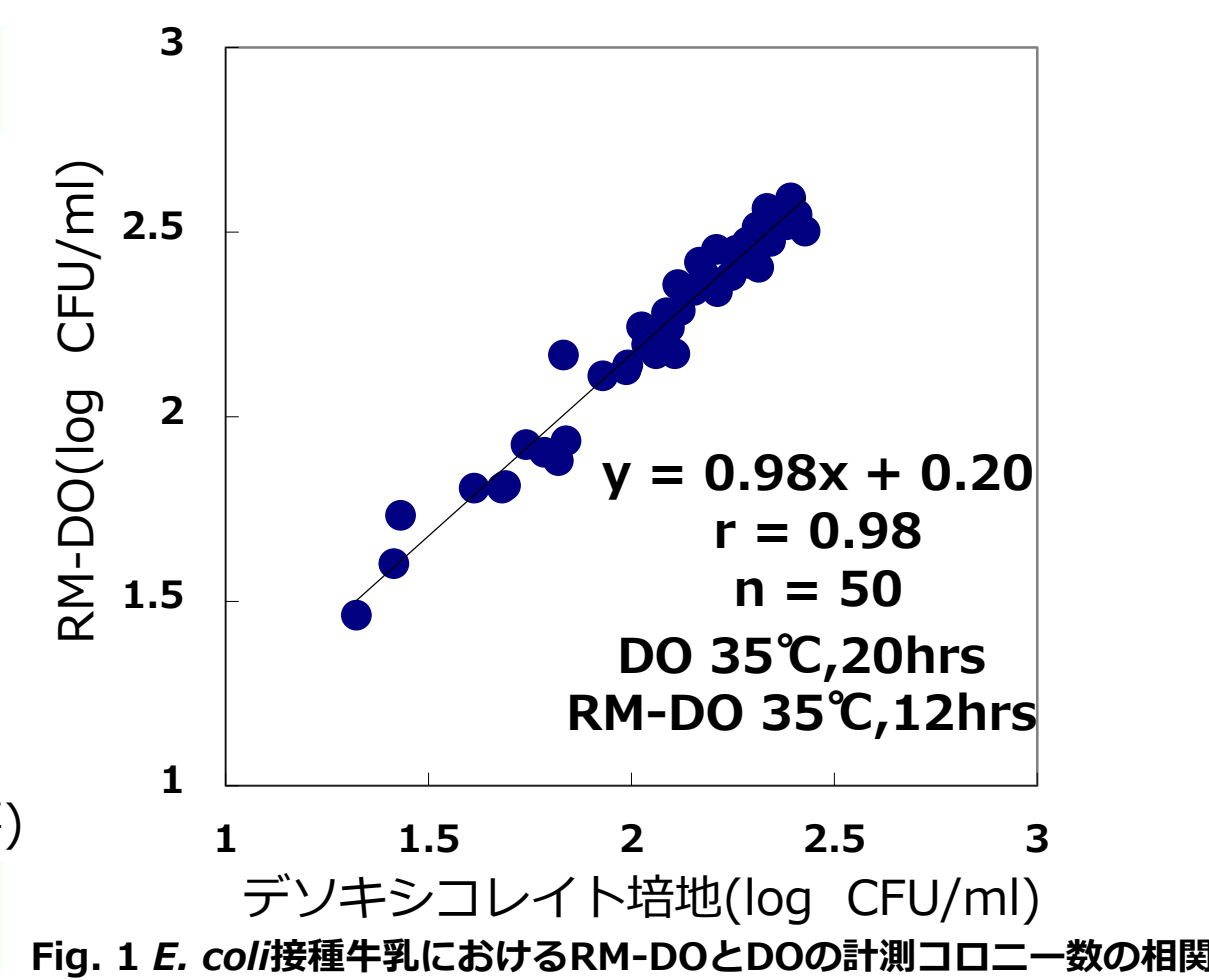


Fig. 2 X-GAL試液滴下前後のコロニー画像

## Scanstationの活用

### ●Scanstation

インキュベーターとコロニーカウンタを1台に集約

シャーレ投入 → 画像撮影 → コロニーカウント → 結果判定

高性能カメラによる高い解像度・独自のアルゴリズム  
コロニーの成長にフォーカスしたコロニーカウントシステム

**24hr30分間隔**でシャーレ上のコロニーをチェック

コロニー発生時は表示が赤色に変化

コロニー発生時は、直ちにアラート発報  
異常の早期発見・早期対応が可能

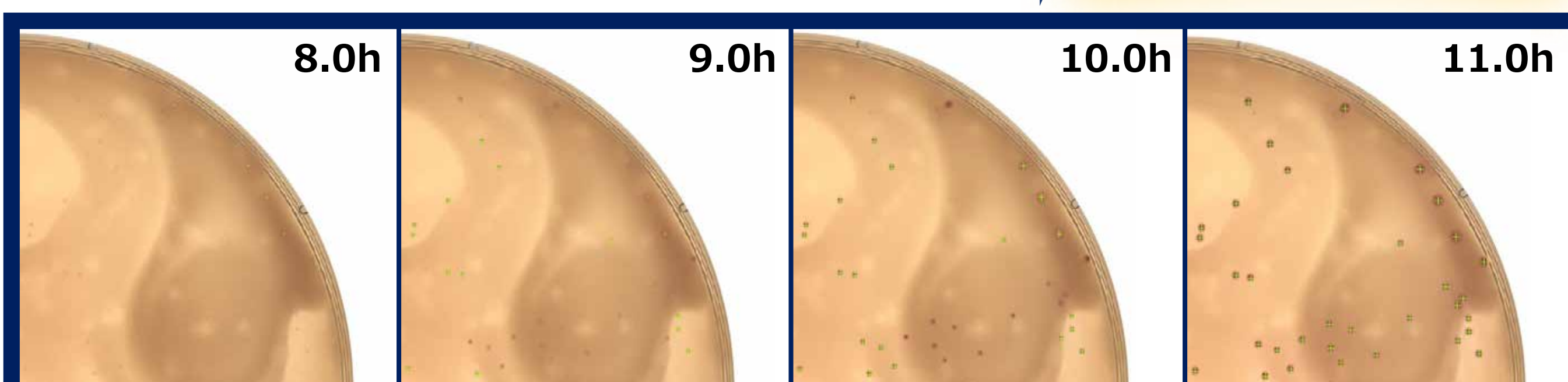
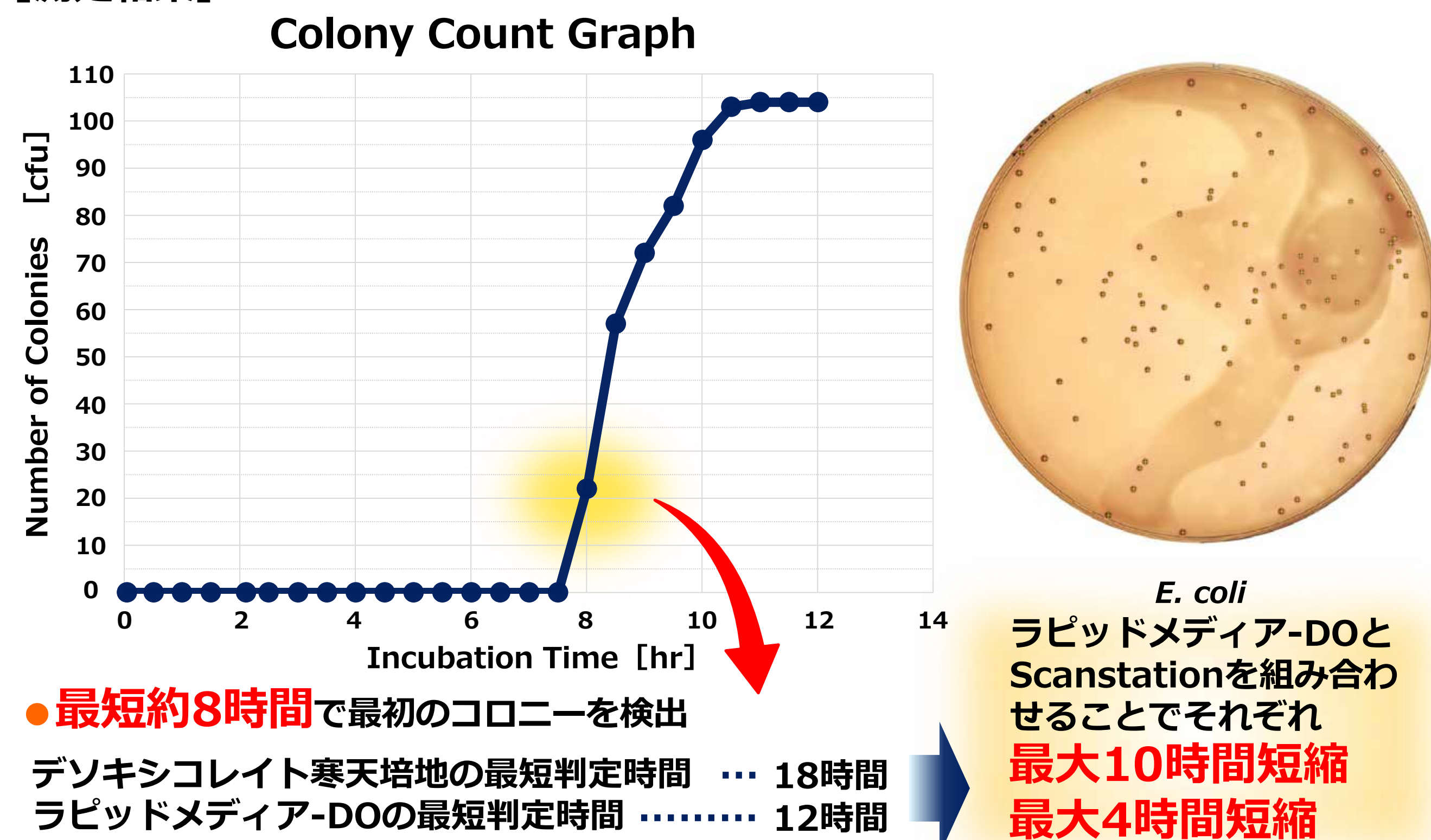
## ラピッドメディア-DO + Scanstationを活用した判定検査の迅速化

### ●ラピッドメディア-DOを用いたコロニー検出迅速化確認

【方法】 シャーレ1枚当たり約100 cfu 検出するように調製

- ①牛乳100 mlに *E. coli* を約10000 cfu添加
- ② *E. coli* 添加済みの牛乳1.0 mlをRM-DOに接種
- ③Scanstationにて培養し、検出コロニー数の経時変化を確認

【測定結果】



24時間リアルタイムで画像解析を行うことで、経時的に大きくなる場合にコロニーと判断  
→ 高精細画像によるコロニー検出情報を早期に得られる可能性がある

ラピッドメディア-DOの特徴を活用しScanstationを用いることで  
目視では判別し難い小さなコロニーまで迅速に検出可能

### ●目視とScanstationにおけるコロニー検出能比較

実物大 8.0h 12.0h

*E. coli* *E. coli*

Scanstationによりコロニーと認識できる最短時間のシャーレ

目視による最短判定時間のシャーレ

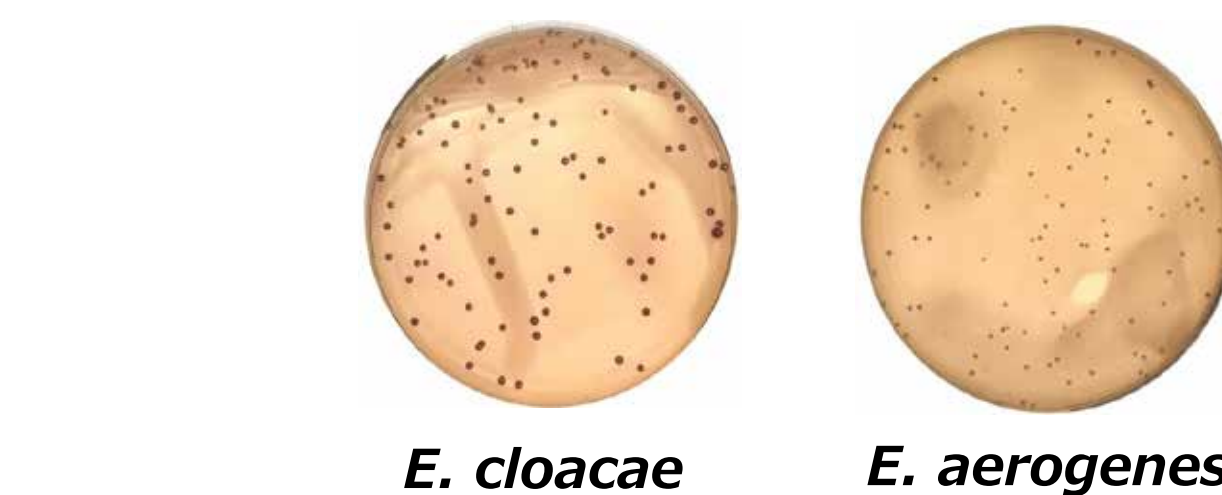
目視での認識は困難

ニュートラルレッドの呈色あり  
コロニー隆起あり

ラピッドメディア-DO + Scanstation = 判定の迅速化  
アラート表示により早期に品質異常時での対応が可能

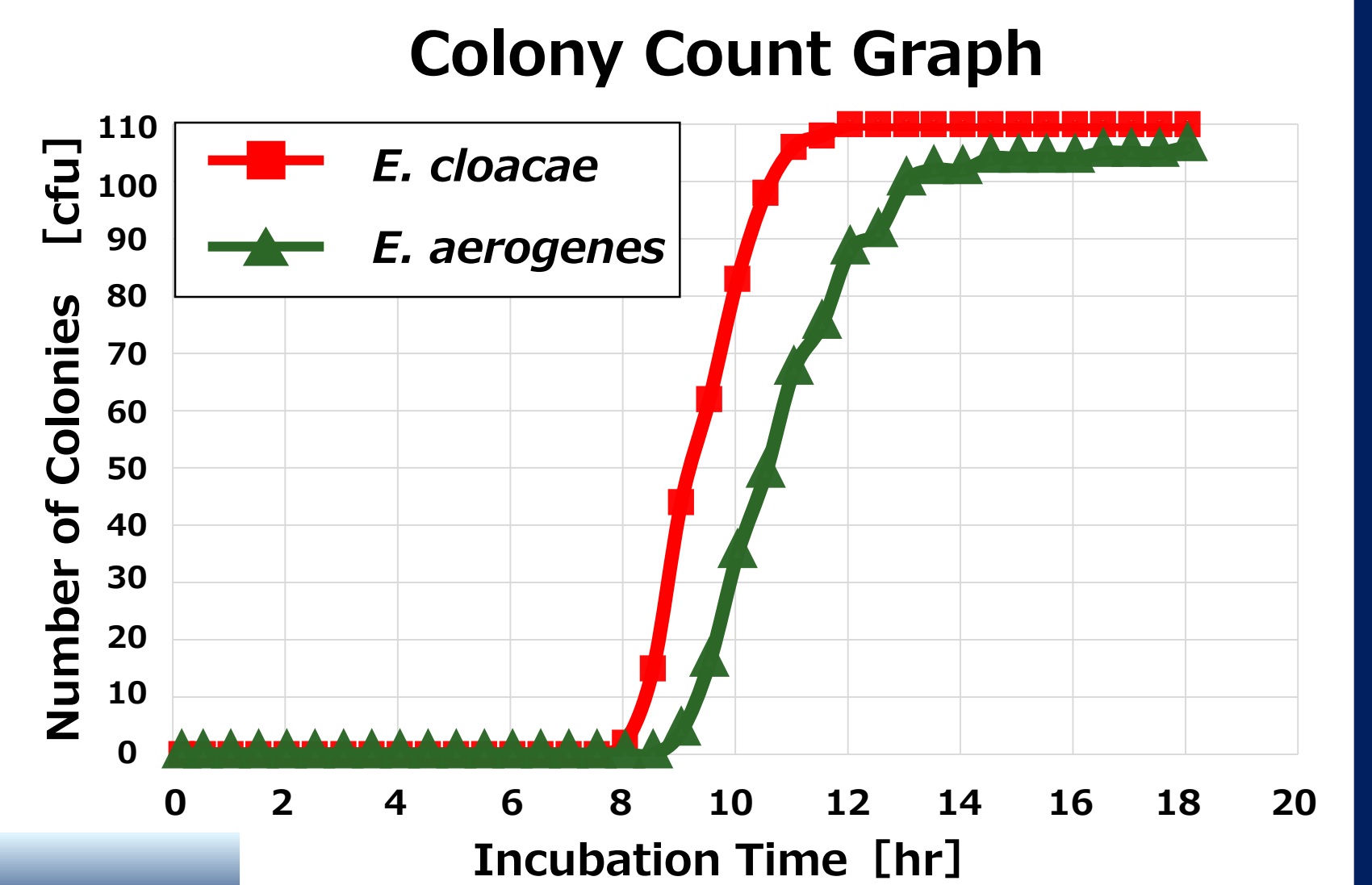
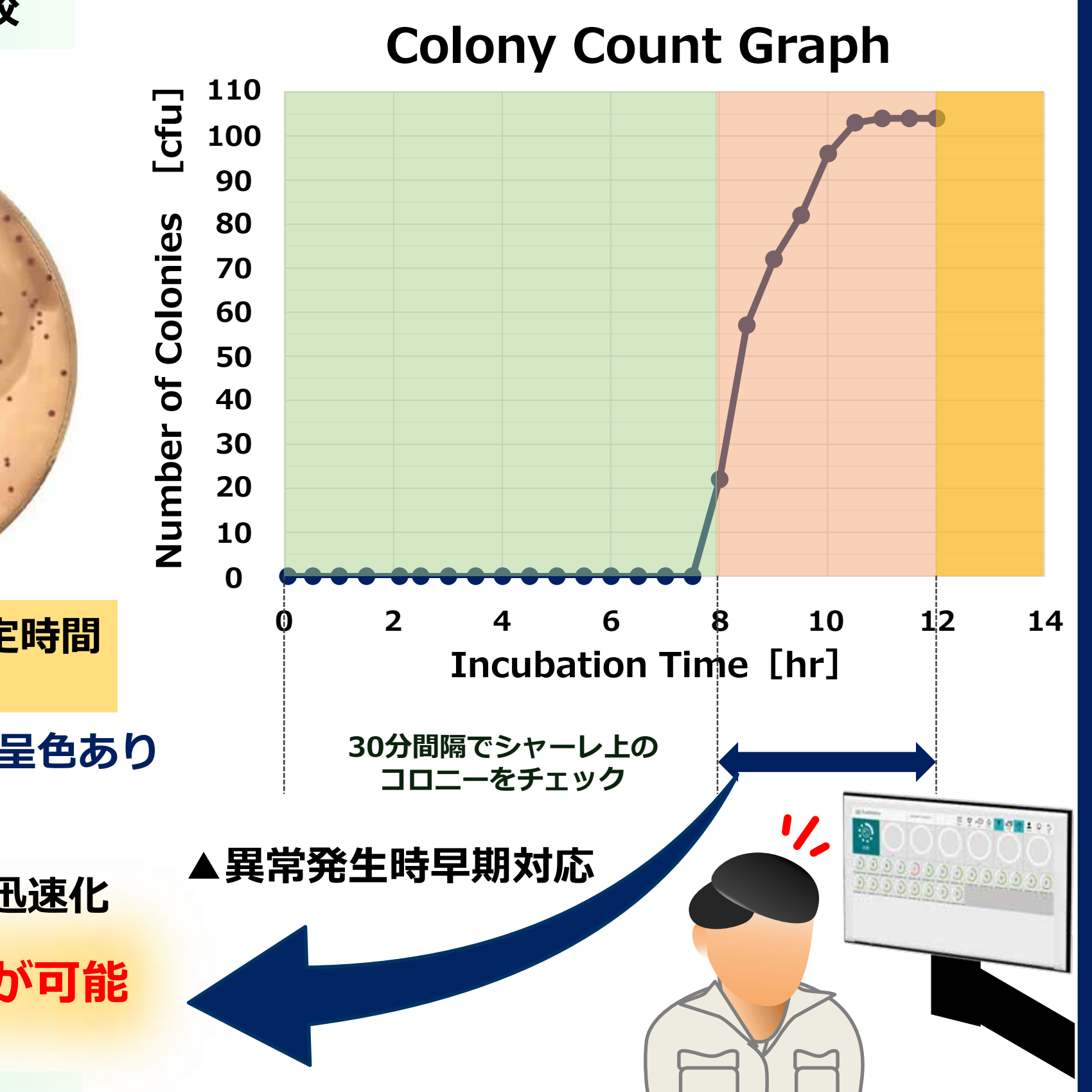
### ●*E. cloacae*, *E. aerogenes* の検出分析

菌種の違いが検出に与える影響調査



*E. coli* と同様にラピッドメディア-DOの最短判定時間12時間と比較し早期にコロニー検出が可能

異なる菌種においてもコロニーを迅速に検出可能であると示唆された



ラピッドメディア-DOとScanstationの活用により  
品質異常時におけるさらなる早期対応が可能

## 結言

### ■ラピッドメディア-DO (RM-DO) の使用

→ 培養開始後**最短12時間**での、迅速な大腸菌群の検出が可能である

### ■Scanstationの使用

培養開始後**24時間リアルタイム**で画像撮影を行い、経時的に大きくなる場合にコロニーと判断

→ 正確なコロニー検出情報を早期に得る事が可能

**目視では判断し難い小さなコロニーまで最短約8時間**で最初のコロニーを迅速に検出可能

ラピッドメディア-DOとScanstationの活用により

**品質異常時におけるさらなる早期対応が可能**  
(最短約8時間)